

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
28. Oktober 2004 (28.10.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/092184 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07F
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2004/000521
(22) Internationales Anmeldedatum:
16. März 2004 (16.03.2004)
(25) Einreichungssprache: Deutsch
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
(30) Angaben zur Priorität:
103 16 965.2 12. April 2003 (12.04.2003) US
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): FORSCHUNGSZENTRUM ROSSENDORF E.V.
[DE/DE]; Bautzner Landstrasse 128, 01328 Dresden (DE).

Hans-Jürgen [DE/DE]; Heckelstrasse 1, 01809 Heidenau
(DE). SPIES, Hartmut [DE/DE]; Julius-Scholz-Strasse
62, 01217 Dresden (DE). JUNG, Christian [DE/DE];
Bachstrasse 16, 01099 Dresden (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

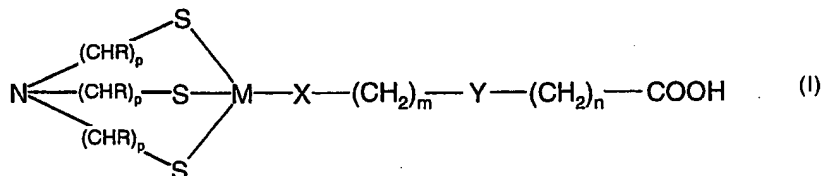
(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PIETZSCH,

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: TECHNETIUM-LABELLED FATTY ACIDS AND THEIR USE IN MYOCARDIAL DIAGNOSTICS, IN ADDITION
TO A METHOD FOR PRODUCING SAID TECHNETIUM-LABELLED FATTY ACIDS

(54) Bezeichnung: TECHNETIUMMARKIERTE FETTSÄUREN UND DEREN VERWENDUNG FÜR DIE MYOKARDDIAG-
NOSTIK SOWIE VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG DER TECHNETIUMMARKIERTEN FETTSÄUREN



(57) Abstract: The aim of the invention is to propose substances, which after introduction into the body are mechanically stable vis-à-vis the chelate and are absorbed by the myocardium, and a method for producing said substances. Technetium-labelled fatty acids of formula (I) constitute said substances. In said formula: (CHR)_p represents two or three substituted or unsubstituted methylene bridges and R and H represent substituted or unsubstituted esters, substituted or unsubstituted amides and CHR₁, whereby R₁ stands for substituted or unsubstituted esters or substituted or unsubstituted amides; M represents ⁹⁹Tc, ^{99m}Tc; X stands for the isocyano group (CN-) or PR₂R₃, wherein R₂ and R₃ represent substituted or unsubstituted alkyl groups or substituted or unsubstituted aryl groups; Y stands for O, N-R₄, S, CH-R₅, substituted or unsubstituted aryl or CH=C-R₆, whereby R₄, R₅ and R₆ represent substituted or unsubstituted alkyl groups or substituted or unsubstituted aryl groups; and m and n represent the number of methylene groups, whereby the sum of m and n lies between 7 and 20. The invention also relates to the use of technetium-labelled fatty acids for myocardial diagnostics and to a method for producing said technetium-labelled fatty acids.

(57) Zusammenfassung: Aufgabe der Erfindung ist es, Substanzen vorzuschlagen, die nach Applikation in den Körper metabolisch stabil hinsichtlich des Chelats sind und vom Herzmuskel aufgenommen werden sowie ein Verfahren zur Herstellung dieser Substanz anzugeben. Die Lösung beinhaltet technetiummarkierte Fettsäuren der Formel (I) worin (CHR)_p für zwei oder drei substituierte oder unsubstituierte Methylenebrücken steht und R H, substituierte oder unsubstituierte Ester, substituierte oder unsubstituierte Amide und CHR₁ darstellen, wobei R₁, substituierte oder unsubstituierte Ester, substituierte oder unsubstituierte Amide repräsentiert, M ⁹⁹Tc, ^{99m}Tc bedeuten, X für die Isocyanogruppe (CN-) oder PR₂R₃ steht, worin R₂ und R₃ substituierte oder unsubstituierte Alkylreste oder substituierte oder unsubstituierte Arylreste bedeuten, Y für O, N-R₄, S, CH-R₅, substituiertes oder unsubstituiertes aryl, CH=C-R₆ steht, wobei R₄, R₅ und R₆ substituierte oder unsubstituierte Alkylreste oder substituierte oder unsubstituierte Arylreste bedeuten und m und n die Anzahl der Methylengruppen repräsentieren, wobei die Summe aus m und n zwischen 7 und 20 liegt; sowie die Verwendung der technetiummarkierten Fettsäuren zur Myocardiagnostik. Außerdem wird ein Verfahren zur Herstellung der technetiummarkierten Fettsäuren angegeben.

WO 2004/092184 A1



GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US*

Veröffentlicht:

- *mit internationalem Recherchenbericht*
- *mit geänderten Ansprüchen*

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Technetiummarkierte Fettsäuren und deren Verwendung für die Myokarddiagnostik sowie Verfahren zur Herstellung der technetiummarkierten Fettsäuren

Die Erfindung betrifft das Gebiet der Radiopharmazie, insbesondere technetiummarkierte Fettsäuren und deren Verwendung für die Myokarddiagnostik sowie ein Verfahren zur Herstellung der technetiummarkierten Fettsäuren.

Die Erfindung betrifft speziell ^{99m}Tc -Technetium-Radiotracer und ihre Verwendung als radioaktive Arzneimittel. Das Einsatzgebiet der Erfindung ist die nuklearmedizinische Diagnostik, speziell für die Untersuchung des Herzmuskels.

Die Diagnostik mit Technetium-99m-Präparaten findet bereits Anwendung zur Untersuchung des renalen und hepatobiliären Systems, des Skeletts, des Myokards und Hirns. Die Entwicklung weiterer Technetiumdiagnostika zielt unter anderem auf den Ersatz eingeführter Präparate, die entweder Nuklide mit weniger günstigen Eigenschaften enthalten, logistische Nachteile bei ihrer Herstellung aufweisen oder aber zu teuer sind, durch das vorteilhafte Technetium. Ein solcher Ansatz ist der Versuch, technetiummarkierte Fettsäuren zur Untersuchung der Leistungsfähigkeit des Herzmuskels einzusetzen.

Bisher finden $[\text{I}^{123}]$ Iodmarkierte Fettsäuren Anwendung in der Myokard-Szintigraphie. So ist die iodmarkierte Fettsäure $[\text{I}^{123}]$ BMIPP (15-(p-Iodphenyl)-3-(R,S)-methylpentadecansäure) unter der Bezeichnung Cardiodine (Nihon Medi-Physics, Inc.) in Japan als Radiopharmakon zugelassen. Unvorteilhaft hinsichtlich Herstellung bzw. Markierung der Iodtracer sind lange Reaktions- und Reinigungszeiten, geringe radiochemische Ausbeuten und der hohe Preis.

Zahlreiche Bemühungen, $[\text{I}^{123}]$ Iodphenylfettsäuren durch $[\text{Tc}^{99m}]$ Technetiumfettsäuren zu ersetzen, blieben bisher ohne Erfolg.

Beispielsweise beschreiben WO 00/61196 und K.P.Maresca, T.M.Shoup, F.J.Femia, M.A.Burker, A.Fishman, J.B.Babich, J.Zubieta: Synthesis, characterization, and biodistribution of a Technetium-99m '3+1' fatty acid derivative, the crystal and molecular structures of a series of oxorhenium model complexes, *Inorg. Chim. Acta* 338 (2002) 149-156, sowie C. M. Jung, W. Kraus, P. Leibnitz, H. -J. Pietzsch, J.Kropp, H. Spies, Synthesis and First Crystal Structure of Rhenium Complexes derived from α -functionalized Fatty Acids as Model Compounds of Technetium Tracers for Myocardial Metabolism Imaging, *Eur. J. Inorg.Chem.* 2002, 1219 – 1225,

Technetiumkomplexe vom bekannten „3+1“-Gemischtligandtyp, in denen langkettige Fettsäuren als Thiolatliganden gebunden sind. Verbindungen vom „3+1“-Typ sind jedoch in vivo instabil, da sie mit Glutathion konjugiert werden. Substanzen mit Aussicht auf Erfolg sollten metabolisch stabil hinsichtlich des Chelats sein.

Bioverteilungsstudien in Ratten an weiteren Verbindungen, die sich von Fettsäuren mit 4 bzw. 10 Methylengruppen ableiten (K.P.Maresca et al., aaO), zeigen niedrige Herz zu Blutaktivitäten und weisen damit diese Verbindungen als ungeeignet für das Herz-Imaging aus. Weitere technetiummarkierte Verbindungen sind die Hexansäure ^{99m}Tc -MAMA-HA (Y.Magata, N.Yamamura, Y.Arano, H.Saji: Development of fatty acid derivative labeled with Tc-99m using monoamine-monoamide dithiol as a chelating group: recognized as a substrate for β -oxidation, J.Labelled Cpd.Radiopharm. 42, Suppl.1 (1999), 590-591) und Hexadecansäure ^{99m}Tc -MAMA-HAD (Y.Magata, T.Kawaguchi, T.Tenma, T.Mukai, J.Konishi, N.Yamamura, H.Saji: „ ^{99m}Tc -labelled long chain fatty acid derivative for myocardial imaging“ J.Nucl.Med. (Suppl.) 42 (2001) 260P; N.Yamamura, Y.Magata, Y.Arano, T.Kawaguchi, K.Ogawa, J.Konishi, H.Saji: „Technetium-99m-labelled medium-chain fatty acid analogues metabolized by β -oxidation: Radiopharmaceutical for assessing liver function“ Bioconjugate Chem. 10 (1999) 489-495), in denen Technetium durch einen tetradentaten Liganden gebunden ist, die aber keine zufriedenstellenden biologischen Eigenschaften aufweisen (Y.Magata, T.Kawaguchi, T.Tenma et al., aaO).

Weitere technetiummarkierte Fettsäuren mit unterschiedlichen Komplexbildnern zeigen nur geringe Aufnahme in den Herzmuskel (EP 1 046 401 A2).

Aufgabe der Erfindung ist es, Substanzen vorzuschlagen, die nach Applikation in den Körper metabolisch stabil hinsichtlich des Chelats sind und vom Herzmuskel aufgenommen werden sowie ein Verfahren zur Herstellung dieser Substanzen anzugeben.

Gegenstand der Erfindung sind die im Anspruch 1 beschriebenen Verbindungen sowie deren Verwendung zur Diagnostik des Herzmuskels und ein Verfahren zur Herstellung der Verbindung gemäß Anspruch 1.

Eine Markierung von Fettsäuren mit Technetium ist mit nachstehenden Forderungen verbunden: Wichtiges Merkmal für die zu entwickelnden Verbindungen ist, dass sie ähnlich wie die radioaktiven Iodphenylfettsäuren vom Herzmuskel aufgenommen werden. Weiter sollen die

Technetiumverbindungen Vorteile gegenüber Iodfettsäuren hinsichtlich hoher Markierungsstabilität, einfacher Herstellung, guter Verfügbarkeit und niedrigen Preises aufweisen.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen ähnlich wie die radioaktiven Iodphenylfettsäuren vom Herzmuskel aufgenommen werden und damit zur Verwendung bei der Diagnostik des Herzmuskels sehr gut geeignet sind.

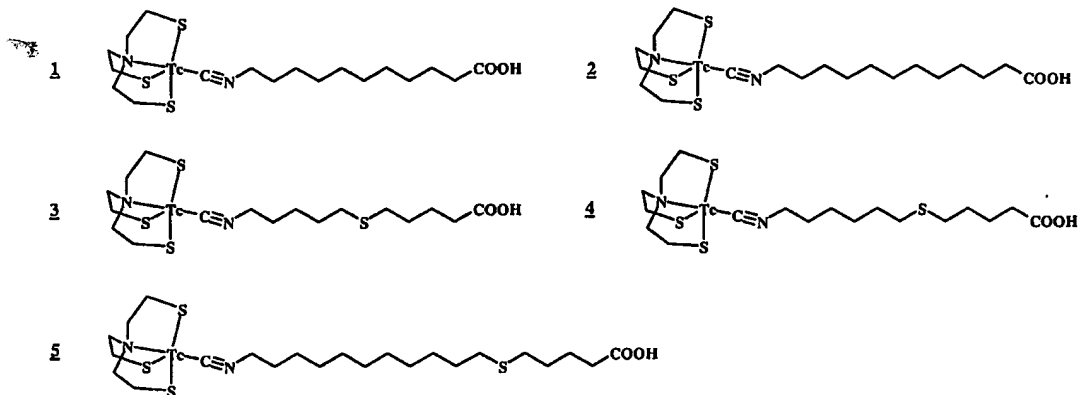
Zur Lösung der Aufgabe wird Technetium-99m mit Hilfe eines speziellen Gemischtligandsystems an die ω -Position langkettiger Fettsäuren gebunden. Dazu wird ein tripodaler Komplexbildner verwendet, der gemeinsam mit einer funktionalisierten langkettigen Fettsäure Technetium der Oxydationsstufe +3 bindet. Die in der Endposition der Fettsäure eingebaute Gruppe koordiniert dabei monodentat an das Metall, wobei eine neutrale Koordinationsverbindung resultiert. Die Verbindungen zeigen hohe Stabilität gegenüber Glutathion.

Das Verfahren zur Herstellung der technetiummarkierten Fettsäuren wird nachstehend im Ausführungsbeispiel zuerst allgemein, dann an fünf speziellen Substanzen erläutert.

Verbindungen der allgemeinen Formel $[\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN}-(\text{CH}_2)_{n+m}\text{COOH})]$ werden erhalten durch Reduktion von Pertechnetat (Generatoreluat) in Gegenwart des tripodalen NS_3 -Liganden Nitrilotris(2-mercaptoethyl)amin und eines ω -Isocyanid-Fettsäuremethylesters, und anschließende Verseifung der Estergruppe durch mäßiges Erwärmen im alkalischen Milieu. Nach Neutralisation des Reaktionsgemisches erfolgt die Reinigung des Produktes durch semipräparative HPLC:

Eine Lösung von 0.02 ml Zinn(II)-chlorid wird zu einer Mischung von 0.5 ml Pertechnetatlösung (100 - 500 MBq Generatoreluat), 0.3 ml Propylenglykol, 0.3 mg 2,2,2-Nitrilotris(ethanthiol) (als Oxalat), gelöst in 0,1 ml Ethanol, 0.05 mg des entsprechenden ω -Isocyano-Fettsäureesters in 0,6 ml Ethanol, sowie 0.005 ml 0.1 M Natronlauge gegeben und 20 min auf 37 °C gehalten. Die Verseifung der Esterfunktion erfolgt anschließend durch Zugabe von weiteren 0.1 ml 1 M Natronlauge und 30 min Erwärmen auf 37 °C. Nach Neutralisation mit 1 M Salzsäure wird der $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Fettsäurekomplex per semipräparativer HPLC isoliert (*Knauer*, Laufmittel: MeOH / 0.01 M Phosphatpuffer pH 7.4; Gradient: in 10-15 min von 60-70 → 100 % Methanol; Fluß: 2 mL/min (semipräparativ) / 1 mL/min (analytisch); Retentions-zeit zwischen 4 und 7 Minuten). Radiochemische Ausbeute: ~ 65 %

Die Herstellung der technetiummarkierten Fettsäuren wird nachstehend an 5 speziellen Ausführungsbeispielen erläutert. Die Verbindungen der allgemeinen Formel $[\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN}-(\text{CH}_2)_{n+m}\text{COOH})]$ enthalten Fettsäurereste unterschiedlicher Kettenlänge ohne (1,2) und mit (3–5) Thioethergruppe in der Fettsäurekette.



Spezielles Ausführungsbeispiel 1:

$[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]$ -(Nitrilotris(ethanthiolato))(ω -carboxy-decamethylenisocyanido)technetium(III)

$[\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN}-(\text{CH}_2)_{10}\text{COO})]$ ($\text{M} = \text{Tc}$; $\text{X} = \text{CN}-$; $\text{Y} = \text{CH}_2$, $m + n = 9$)

Darstellung gemäß der allgemeinen Herstellungsverfahren unter Verwendung von 11-Isocyanoundecansäuremethylester. Eine Lösung von 0.02 ml Zinn(II)-chlorid wird zu einer Mischung von 0.5 ml Pertechetatlösung (100 - 500 MBq Generatoreluat), 0.3 ml Propylenglykol, 0.3 mg 2,2,2-Nitrilotris(ethanthiol) (als Oxalat), gelöst in 0,1 ml Ethanol, 0.05 mg 11-Isocyanoundecansäuremethylester in 0,6 ml Ethanol, sowie 0.005 ml 0.1 M Natronlauge gegeben und 20 min auf 37 °C gehalten. Die Verseifung der Esterfunktion erfolgt anschließend durch Zugabe von weiteren 0.1 ml 1 M Natronlauge und 30 min Erwärmen auf 37 °C. Nach Neutralisation mit 1 M Salzsäure wird der $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Fettsäurekomplex per semipräparativer HPLC isoliert (*Knauer*, Laufmittel: MeOH / 0.01 M Phosphatpuffer pH 7.4; Gradient: in 10-15 min von 60-70 → 100 % Methanol; Fluß: 2 mL/min (semipräparativ) / 1 mL/min (analytisch); Retentionszeit zwischen 4 und 7 Minuten). Radiochemische Ausbeute: ~ 65 %

Spezielles Ausführungsbeispiel 2:

$[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]$ -(Nitrilotris(ethanthiolato))(ω -carboxy-undecamethylenisocyanido)technetium(III)

$[\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN}-(\text{CH}_2)_{11}\text{COO})]$ ($\text{M} = \text{Tc}$; $\text{X} = \text{CN}-$; $\text{Y} = \text{CH}_2$, $m + n = 10$)

Darstellung gemäß der allgemeinen Herstellungsvorschrift unter Verwendung von 12-Isocyanododecansäuremethylester.

Eine Lösung von 0.02 ml Zinn(II)-chlorid wird zu einer Mischung von 0.5 ml Pertechneatlösung (100 - 500 MBq Generatoreluat), 0.3 ml Propylenglykol, 0.3 mg 2,2,2-Nitrilotris(ethanthiol) (als Oxalat), gelöst in 0,1 ml Ethanol, 0.05 mg 12-Isocyanododecansäuremethylester in 0,6 ml Ethanol, sowie 0.005 ml 0.1 M Natronlauge gegeben und 20 min auf 37 °C gehalten. Die Verseifung der Esterfunktion erfolgt anschließend durch Zugabe von weiteren 0.1 ml 1 M Natronlauge und 30 min Erwärmen auf 37 °C. Nach Neutralisation mit 1 M Salzsäure wird der $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Fettsäurekomplex per semipräparativer HPLC isoliert (*Knauer*, Laufmittel: MeOH / 0.01 M Phosphatpuffer pH 7.4; Gradient: in 10-15 min von 60-70 → 100 % Methanol; Fluß: 2 mL/min (semipräparativ) / 1 mL/min (analytisch); Retentionszeit zwischen 4 und 7 Minuten). Radiochemische Ausbeute: ~ 65 %

Spezielles Ausführungsbeispiel 3:

$[\text{^{99m}Tc}]\text{-(Nitrilotris(ethanthiolato))}(\omega\text{-carboxy-6-thia-decamethylenisocyanido)technetium(III)}$
 $[\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN}-(\text{CH}_2)_5\text{S}(\text{CH}_2)_4\text{COOH})]$
 ($\text{M} = \text{Tc}$; $\text{X} = \text{CN}-$; $\text{Y} = \text{S}$, $m = 5$, $n = 4$)

Darstellung gemäß der allgemeinen Synthesevorschrift unter Verwendung von 11-Isocyano-6-thiaundecansäuremethylester.

Eine Lösung von 0.02 ml Zinn(II)-chlorid wird zu einer Mischung von 0.5 ml Pertechneatlösung (100 - 500 MBq Generatoreluat), 0.3 ml Propylenglykol, 0.3 mg 2,2,2-Nitrilotris(ethanthiol) (als Oxalat), gelöst in 0,1 ml Ethanol, 0.05 mg 11-Isocyano-6-thiaundecansäuremethylester in 0,6 ml Ethanol, sowie 0.005 ml 0.1 M Natronlauge gegeben und 20 min auf 37 °C gehalten. Die Verseifung der Esterfunktion erfolgt anschließend durch Zugabe von weiteren 0.1 ml 1 M Natronlauge und 30 min Erwärmen auf 37 °C. Nach Neutralisation mit 1 M Salzsäure wird der $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Fettsäurekomplex per semipräparativer HPLC isoliert (*Knauer*, Laufmittel: MeOH / 0.01 M Phosphatpuffer pH 7.4; Gradient: in 10-15 min von 60-70 → 100 % Methanol; Fluß: 2 mL/min (semipräparativ) / 1 mL/min (analytisch); Retentionszeit zwischen 4 und 7 Minuten). Radiochemische Ausbeute: ~ 65 %

Spezielles Ausführungsbeispiel 4:

$[^{99m}\text{Tc}]$ -(Nitrilotris(ethanthiolato))(ω -carboxy-6-thia-undecamethylenisocyanido)technetium(III)

$[\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN}-(\text{CH}_2)_6\text{S}(\text{CH}_2)_4\text{COOH})]$

((M = Tc; X = CN-; Y = S, m = 6, n = 4))

Darstellung gemäß der allgemeinen Synthesevorschrift unter Verwendung von 12-Isocyano-6-thiadodecansäuremethylester.

Eine Lösung von 0.02 ml Zinn(II)-chlorid wird zu einer Mischung von 0.5 ml Pertechneatlösung (100 - 500 MBq Generatoreluat), 0.3 ml Propylenglykol, 0.3 mg 2,2,2-Nitrilotris(ethanthiol) (als Oxalat), gelöst in 0,1 ml Ethanol, 0.05 mg 12-Isocyano-6-thiadodecansäuremethylester in 0,6 ml Ethanol, sowie 0.005 ml 0.1 M Natronlauge gegeben und 20 min auf 37 °C gehalten. Die Verseifung der Esterfunktion erfolgt anschließend durch Zugabe von weiteren 0.1 ml 1 M Natronlauge und 30 min Erwärmen auf 37 °C. Nach Neutralisation mit 1 M Salzsäure wird der ^{99m}Tc -Fettsäurekomplex per semipräparativer HPLC isoliert (*Knauer*, Laufmittel: MeOH / 0.01 M Phosphatpuffer pH 7.4; Gradient: in 10-15 min von 60-70 → 100 % Methanol; Fluß: 2 mL/min (semipräparativ) / 1 mL/min (analytisch); Retentionszeit zwischen 4 und 7 Minuten). Radiochemische Ausbeute: ~ 65 %

Spezielles Ausführungsbeispiel 5:

$[^{99m}\text{Tc}]$ -(Nitrilotris(ethanthiolato))(ω -carboxy-6-thia-hexadecamethylenisocyanido)technetium(III)

$[\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN}-(\text{CH}_2)_{11}\text{S}(\text{CH}_2)_4\text{COOH})]$

((M = Tc, X = CN-; Y = S, m = 11, n = 4))

Darstellung gemäß der allgemeinen Synthesevorschrift unter Verwendung von 17-Isocyano-6-thiaheptadecansäuremethylester.

Eine Lösung von 0.02 ml Zinn(II)-chlorid wird zu einer Mischung von 0.5 ml Pertechneatlösung (100 - 500 MBq Generatoreluat), 0.3 ml Propylenglykol, 0.3 mg 2,2,2-Nitrilotris(ethanthiol) (als Oxalat), gelöst in 0,1 ml Ethanol, 0.05 mg 17-Isocyano-6-thiaheptadecansäuremethylester in 0,6 ml Ethanol, sowie 0.005 ml 0.1 M Natronlauge gegeben und 20 min auf 37 °C gehalten. Die Verseifung der Esterfunktion erfolgt anschließend durch Zugabe von weiteren 0.1 ml 1 M Natronlauge und 30 min Erwärmen auf 37 °C. Nach Neutralisation mit 1 M Salzsäure wird der ^{99m}Tc -Fettsäurekomplex per semipräparativer HPLC isoliert (*Knauer*, Laufmittel: MeOH / 0.01 M Phosphatpuffer pH 7.4; Gradient: in 10-15 min von 60-70 → 100 % Methanol; Fluß: 2 mL/min (semipräparativ) / 1 mL/min (analytisch); Retentionszeit zwischen 4 und 7 Minuten).

Radiochemische Ausbeute: ~ 65 %

Der Vorteil bei der Anwendung der Erfindung lässt sich an nachstehendem Vergleich der kardialen Extraktionsraten der nach den Ausführungsbeispielen erhaltenen Tc-Tracer 1 – 5 relativ zu ω -(p-Iodphenyl)-pentadecansäure (IPPA) (Extraktion am isolierten, Langendorff-perfundierten Herzmodell) gut ablesen:

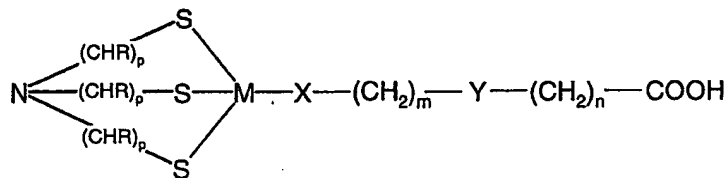
Radiotracer Relative kardiale Extraktionsrate

[¹²³ I]IPPA	1
<u>1</u>	3,1
<u>2</u>	1,2
<u>3</u>	0,7
<u>4</u>	1,4
<u>5</u>	0,8

Technetiummarkierte Fettsäuren und deren Verwendung für die Myokarddiagnostik sowie Verfahren zur Herstellung der technetiummarkierten Fettsäuren

Patentansprüche

1. Technetiummarkierte Fettsäure der Formel



worin

(CHR)_p für zwei oder drei substituierte oder unsubstituierte Methylenbrücken steht und R H, substituierte oder unsubstituierte Ester, substituierte oder unsubstituierte Amide und CHR₁ darstellen, wobei R₁ substituierte oder unsubstituierte Ester, substituierte oder unsubstituierte Amide repräsentiert,

M ⁹⁹Tc, ^{99m}Tc bedeuten,

X für die Isocyanogruppe (CN-) oder PR₂R₃ steht, worin R₂ und R₃ substituierte oder unsubstituierte Alkylreste oder substituierte oder unsubstituierte Arylreste bedeuten,

Y für O, N-R₄, S, CH-R₅, substituiertes oder unsubstituiertes aryl, CH=C-R₆ steht, wobei R₄, R₅ und R₆ substituierte oder unsubstituierte Alkylreste oder substituierte oder unsubstituierte Arylreste bedeuten und

m und n die Anzahl der Methylengruppen repräsentieren, wobei die Summe aus m und n zwischen 7 und 20 liegt.

2. Verwendung der technetiummarkierten Fettsäure nach Anspruch 1 zur Verwendung in der Myokarddiagnostik.

3. Verfahren zur Herstellung der technetiummarkierten Fettsäuren nach Anspruch 1, wobei Pertechnetat in Gegenwart eines Komplexbildners reduziert wird, dadurch gekennzeichnet, dass als Komplexbildner die Kombination der Substanzen von tripodalen NS_3 -Liganden Nitrolotris(2-mercaptoethyl)amin und ω -Isocyanid-Fettsäuremethylester verwendet wird.

GEÄNDERTE ANSPRÜCHE

**[beim Internationalen Büro am 13 September 2004 (13.09.2004) eingegangen
ursprünglicher Anspruch 2 geändert, all weiteren Ansprüche unverändert (1 Seite)]**

2. Verwendung der technetiummarkierten Fettsäure nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Diagnostikmittels für die Myocardiagnostik.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE2004/000521

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07B59/00 A61K51/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07B A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DREWS A ET AL: "Synthesis and biological evaluation of technetium(III) mixed-ligand complexes with high affinity for the cerebral 5-HT1A receptor and the alpha1-adrenergic receptor"</p> <p>NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NEW YORK, NY, US, vol. 29, no. 4, May 2002 (2002-05), pages 389-398, XP004357341</p> <p>ISSN: 0969-8051</p> <p>the whole document</p> <p style="text-align: center;">----- -/-</p>	1-3



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 August 2004

Date of mailing of the international search report

02/09/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Young, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE2004/000521

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>PIETZSCH H J ET AL: "Mixed-ligand technetium(III) complexes with tetradendate/monodendate NS(3)/isocyanide coordination: a new nonpolar technetium chelate system for the design of neutral and lipophilic complexes stable in vivo." BIOCONJUGATE CHEMISTRY. 2001 JUL-AUG, vol. 12, no. 4, July 2001 (2001-07), pages 538-544, XP001182645 ISSN: 1043-1802 the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-3
A	<p>JUNG ET AL.: "Syntheses and First Crystal Structures of Rhenium Complexes Derived from kappa-Functionalized Fatty Acids as Model Compounds of Technetium Tracers for Myocardial Metabolism Imaging" EUROPEAN JOURNAL OF INORGANIC CHEMISTRY, vol. 2002, no. 5, 8 April 2002 (2002-04-08), pages 1219-1225, XP002291938 ONLINE cited in the application the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE2004/000521

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claim 2 relates to a diagnostic method practised on the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE2004/000521

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C07B59/00 A61K51/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C07B A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DREWS A ET AL: "Synthesis and biological evaluation of technetium(III) mixed-ligand complexes with high affinity for the cerebral 5-HT1A receptor and the alpha1-adrenergic receptor" NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NEW YORK, NY, US, Bd. 29, Nr. 4, Mai 2002 (2002-05), Seiten 389-398, XP004357341 ISSN: 0969-8051 das ganze Dokument ----- -/--	1-3



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

12. August 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

02/09/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Young, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2004/000521

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>PIETZSCH H J ET AL: "Mixed-ligand technetium(III) complexes with tetradendate/monodendate NS(3)/isocyanide coordination: a new nonpolar technetium chelate system for the design of neutral and lipophilic complexes stable in vivo." BIOCONJUGATE CHEMISTRY. 2001 JUL-AUG, Bd. 12, Nr. 4, Juli 2001 (2001-07), Seiten 538-544, XP001182645 ISSN: 1043-1802 das ganze Dokument</p>	1-3
A	<p>JUNG ET AL.: "Syntheses and First Crystal Structures of Rhenium Complexes Derived from kappa-Functionalized Fatty Acids as Model Compounds of Technetium Tracers for Myocardial Metabolism Imaging" EUROPEAN JOURNAL OF INORGANIC CHEMISTRY, Bd. 2002, Nr. 5, 8. April 2002 (2002-04-08), Seiten 1219-1225, XP002291938 ONLINE in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument</p>	1-3

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

Obwohl der Anspruch 2 sich auf ein Diagnostizierverfahren, das am menschlichen/tierischen Körper vorgenommen wird, bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.